

草原革蜱生理龄期的观察

逢春积 何 华 陈国仕

(军事医学科学院微生物流行病学研究所)

摘要 草原革蜱 *Dermacentor nuttalli* 分布于我国新疆、内蒙等地。苏联、蒙古亦有发现,国内外均已证实是蜱媒斑点热的传播媒介。采用目测、解剖、切片三种方法,进行了生理龄期观察,目测法是观测蜱的腹部厚度变化,以体侧缘为纵轴线比较腹面与此线构成的距离,分成4个生理龄期;解剖法的主要指征是蜱中肠支囊体积和形态变化,马氏管内鸟嘌呤含量和支气管束等形态的变化;切片法的主要指征是中肠上皮细胞形态变化和细胞内血红蛋白颗粒和血红素的变化。三种方法比较,结果基本一致,误差在10%左右。草原革蜱在新疆阿勒泰地区自3月下旬至5月上旬绝大部分为II、III期的强壮蜱,此时正值当地牧放季节,处于活动高峰的媒介蜱,具有重要的流行病学意义。

关键词 草原革蜱 生理龄期 蜱媒斑点热

硬蜱 (Ixodidae) 生理龄期的鉴定最早是由 Балашов (1961) 提出,其基本原理是根据饥饿成蜱的消化系统组织构造的变化,通过中肠支囊的饱满程度,血红蛋白在肠上皮细胞内和鸟嘌呤在马氏管内含量的变化,经组织切片观察,分成4个生理龄期。此后, Pазумова (1977) 提出用解剖和目测相结合的方法,进行龄期分类。开展蜱类生理龄期的研究,有助于进一步了解媒介蜱类的种群生态学及流行病学意义。国外近二十年来相继发展了此项工作,国内至今未见报道。我们于1984年3月至7月在新疆阿勒泰地区,对草原革蜱 *Dermacentor nuttalli* Olenov 的生理龄期,用目测和解剖相结合的方法进行了观察,并以组织切片作了核对,现将研究结果报告如下。

材 料 和 方 法

试验材料采自阿勒泰郊区大字湾芨芨草丛,每隔10天用布旗法拖蜱1次,分类鉴定后进行生理龄期观察,1份标本用上述三种方法同时进行比较。

(一) 目测观察 按照我们自己设计的方法,目测蜱的腹部厚度变化,鉴定生理龄期。用眼科镊子将蜱侧立,由上往下观测,以蜱的体侧缘为纵轴线(图1),比较腹面与纵轴线构成的距离,分成4个生理龄期:

①腹面明显向外突出于纵轴线者,定为生理I期;②腹面与纵轴线重叠在一条线上或稍向外凸出者,定为II期;③腹面内陷但未超过纵轴线与背面间距2/3者,定为III期;④内陷超过2/3或几乎贴近于背面者,定为IV期。

(二) 解剖观察 将蜱腹面向下,头部向前放至滴有速干胶的玻片上,轻轻压住,片刻即可将蜱固定在玻片上,用手术刀从背板的肩突开始,沿着体侧沟细心的作一个环切,一

本文于1984年12月收到。

本文得到新疆阿勒泰军分区分领导和后勤部全体同志们的大力支持,特此致谢。

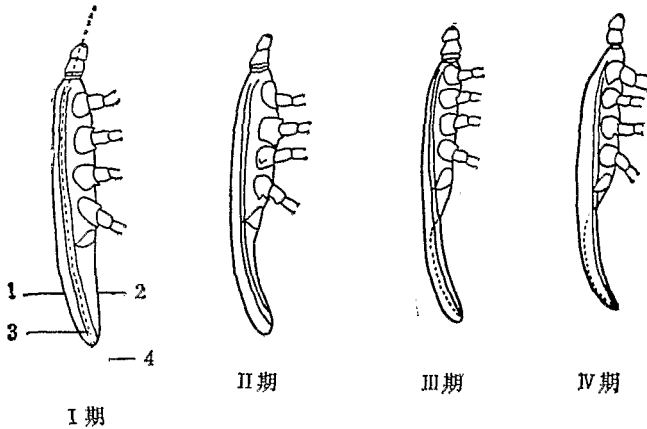


图1 草原革蜉目测外形鉴定龄期示意图(侧面观)

1.背面 2.腹面 3.体侧缘 4.纵轴线

直切至对侧肩突,再于假头基后缘作一个横切,将玻片放至盛有生理盐水的平皿内,由前向后将背板剥离掉。这时可见到内脏器官:7对(中肠支囊,1对涎腺,1对马氏管,1对睾丸或1个卵巢以及支气管束等。(图2)

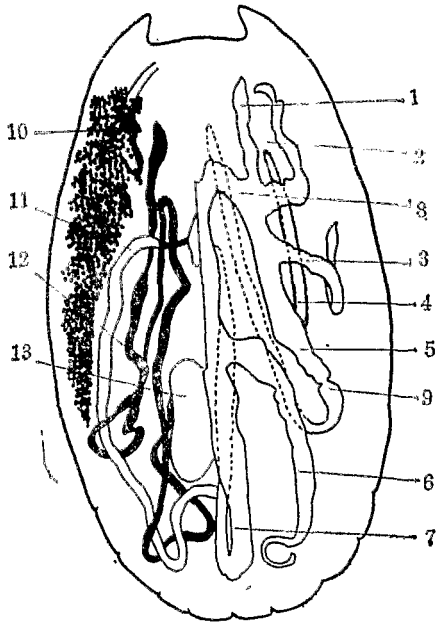


图2 草原革蜉雌虫解剖背面观左半部的中肠已切除
1—7.中肠支囊 8.中肠 9.收缩环 10.涎腺 11.卵巢 12.马氏管 13.直肠囊

参照文献方法,结合实际标本,我们选取了以下3个主要指征:(1)中肠支囊体积和形态的改变;(2)马氏管内鸟嘌呤含量的变化;(3)支气管束和结缔组织的变化。此方法与目测观察相结合,平均误差一般不超过10%。

(三)组织切片观察 将切除背板后的标本放至卡氏(Carnoy)液内,室温下固定1—2小时,采用70℃快速包埋法,进行石蜡包埋,连续切片(6 μ)后,用苏木精,伊红染色,最后制成玻片标本。

切片法鉴定龄期的标准,在 Бала-IIIОВ 4期分类法基础上,采用以下3个主要指征:(1)中肠上皮细胞的形态变化;(2)细胞内血红蛋白颗粒和高铁血红

素的变化,分成8个生理龄期。

结 果 和 讨 论

我们在蜉类活动季节,先后从芨芨草丛上采获到游离的饥饿成蜉,经鉴定为草原革蜉。取100只(雄、雌各半)进行解剖和切片,共制备玻片200张。现将3组试验结果列于表1。

表 1 三种不同方法观察草原革蜉生理龄期结果*

月 份	蜉数(只)	各 生 理 龄 期 蜉 的%								
		目 测			解 剖			切 片		
		II	III	IV	II	III	IV	II	III	IV
3	10	80	20	—	70	30	—	80	20	—
4	48	73	27	—	65	35	—	75	25	—
5	20	35	65	—	40	60	—	40	60	—
6	11	36	55	9	36	55	9	18	64	18
7	11	18	73	9	18	73	9	18	55	27
平均		48.40	48.00	3.60	45.80	50.60	3.60	46.20	44.80	9.00

* 雄、雌蜉的龄期特征基本一致,故未分别列出。

从表中看出,三种不同观察方法所获结果比较接近。以组织切片为标准(100%),对其它两个试验组进行比较,求出符合百分率。结果目测组与切片组的符合率平均为93.10%,解剖组为90.60%,误差为10%左右(7.5—18%),这与文献报告的结果(10—13%)基本一致(表2)。

表 2 两种观察结果与组织切片结果的符合率

月 份	蜉数(只)	符 合 率					
		目 测			解 剖		
		+	±	—	+	±	—
3	10	100	—	—	80	10	10
4	48	75	17.5	7.5	73.3	16.7	10
5	20	55	45	—	60	40	—
6	11	82	9	9	73	18	9
7	11	64	18	18	73	9	18
平 均		75.20	17.90	6.90	71.86	18.74	9.40

+完全符合 ±基本符合 —不符合

通过初步实践证明,本文采用的目测法简单而较准确,也比较容易掌握。观测蜉腹部厚度变化,作为鉴定生理龄期的理论根据主要有二:其一是蜉的腹部多为柔软的表皮组织,弹性较大,故可测量其厚度变化,作为鉴定龄期指征(表3)。

表 3 不同生理龄期草原革蜉腹部厚度测量结果

性 别	II 期			III 期		
	蜉数(只)	厚度 (mm)	平均	蜉数(只)	厚度 (mm)	平均
雄蜉	20	16.49	0.82	10	6.50	0.65
雌蜉	29	29.49	1.02	12	9.09	0.76
合计	49	45.98	0.92	22	15.59	0.71

以上结果表明,随着龄期老化蜉的腹部厚度在逐步变薄,由第 II 期的平均厚度 0.94 mm 至第 III 期为 0.71mm。由于体液消耗其体重亦在不断减轻,见表 4。

表 4 不同生理龄期草原草蜱的体重变化

性 别	II 期			III 期		
	蜱数(只)	重量 (mg)	平均	蜱数(只)	重量 (mg)	平均
雄蜱	23	235.20	10.23	5	46.20	9.24
雌蜱	17	163.20	9.60	4	24.30	6.08
合计	40	398.40	9.96	9	70.50	7.83

由表 4 不难看出,蜱在活动过程中体内营养物质不断消耗,其体重亦在逐渐下降,由第 II 期的平均体重 9.96mg,至第 III 期减轻至 7.83mg。综上所述,说明我们提出的目测蜱腹部厚度的龄期分类法,是有一定理论依据的。这为野外现场调查工作提供了简便方法,而且亦较易于推广应用。

纵观上述三种方法的观察结果,从生理龄期来看,在蜱的活动时期内,II、III 期的强壮蜱占总数的 95% 以上,这样,按照 4 期分类法蜱的生理龄期组成,在季节分布方面看不出明显差别。因此,我们又采用 Репкина (1971) 的 8 期分类法,略加修改,进行了龄期鉴定,结果列于表 5。

表 5 不同时间草原草蜱生理龄期组成(8 期分类法)

月 份	蜱数(只)	生 理 龄 期								平均龄期
		I-1	II-2	II-3	II-4	III-5	III-6	III-7	IV-8	
3 月下旬	10			6	2	2				3.6
4 月上旬	20			11	6	3				3.6
4 月中旬	20			3	12	4	1			4.15
4 月下旬	8			1	6	1				4.0
5 月上旬	10			2	2	1	4	1		5.0
5 月中旬	10				4	1	3	2		5.3
6 月中旬	11				2	1	4	2	2	6.1
7 月中旬	11				2	3	3		3	5.9
合 计	100			23	36	16	15	5	5	4.6

所谓 8 期分类法,是将 4 期分类中的第 II、III 两个龄期,再各分成早、中、晚 3 个亚期,加上第 I 和第 IV 期构成 8 期分类法。这 8 期中的 I-1 期和 II-2 期,处于蜕皮后不久的休止期,故野外采获不到;第 II-3 期为结束休止期开始活动不久的早期成蜱,此时肠上皮细胞肥大,为多层的柱状和扁平上皮细胞,胞浆内血红蛋白颗粒已减少,出现完整的肠腔(图版 I:1)。第 II-4 期,为活动盛期的强壮蜱,肠上皮细胞开始变薄,肠腔增大,细胞顶端疏松,血红蛋白颗粒明显减少,分散在细胞基部(图版 I:2)。第 III-5 期,活动已久的成蜱,肠上皮细胞明显缩小,顶端出现空泡,已看不到再生细胞,血红蛋白消失,血红素颗粒增多(图版 I:3)。第 III-6 期,长时间活动后的饥饿蜱,大部为扁平上皮细胞,少数柱状上皮细胞伸向肠腔,表面形成丘状结构,血红素明显增多,有的聚集成团(图版 I:4)。第 III-7 期,晚期老化蜱,肠上皮菲薄,全部变成单层扁平上皮细胞,肠腔内面光滑,呈环状结构,细胞界线模糊不清,血红素颗粒形成一簇簇团块(图版 I:5)。第 IV-8 期,高度消

耗的衰老螨,已濒临死亡,肠上皮细胞已完全变形,细胞形态和界线完全消失,变成无结构的黑色团块(图版 1:6)。

从表 5 看出,随着螨类活动时间的延续,其生理龄期在持续增长,由 3、4 期向 5、6 期发展,5 月中旬即出现了 7 期衰老螨,直至终龄 8 期,这反映出螨类在自然界进行着退化性衰老变化的动态。从不同时间的平均龄期来看,此发展过程进展比较缓慢,表现为较平滑的龄期曲线(图 3),这可能与螨的生存寿命较长有关。

螨类衰老过程和一切生物有机体一样,是一种不可逆的连续性变化,因而各生理龄期的特征是在发展中相比较而存在的,因而两个龄期之间不可能截然分开,有时在一个切片视野中可能观察到 2 至 3 个不同龄期的肠上皮细胞同时存在。因此,在鉴定龄期过程中,应将各种特征进行综合分析,以出现较多的主要指征,作为确定龄期的判断依据。

调查结果证明,草原革螨在该地区自 3 月下旬至 5 月上旬,绝大部分为积极活动的强壮螨,其中 3 至 5 龄的饥饿螨占观察螨数的 95% 以上,它们具有较强的侵寄能力,在此季节当地已开始收放,当牲畜和人到草丛活动时,等候在芨芨草茎端的饥饿螨,乘机侵袭到宿主身上,进行叮咬和吸血,借此,便有可能传播人畜共患的病原体,无疑具有造成传染和扩散自然疫源性疾病的潜在危险性,为此,在螨类活动盛期尤需积极的采取防制措施。

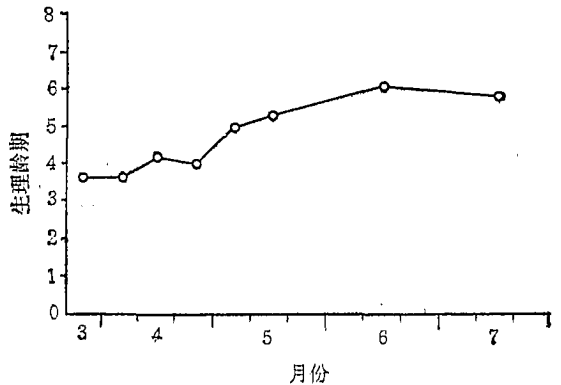


图3 草原革螨平均生理龄期老化曲线

结 论

1. 新疆阿勒泰地区草原革螨自然种群中生理龄期的组成特点是, 3 月下旬至 5 月上旬绝大多数螨为 II 期中、晚期(3、4 期) 和 III 期早期(5 期)的强壮饥饿螨,处于活动高峰,此时对人畜均有较强的侵寄能力,因而具有传染和扩散自然疫源性疾病的潜在危险性。

2. 本文提出的目测螨腹部厚度变化,进行龄期分类的方法,适于野外调查应用。初步实践证明,此法简便易行,比较准确,经组织切片核对,误差约为 10%(7.5—18%)。

3. 解剖方法鉴定生理龄期的主要指征是,中肠支囊的体积和形态的变化,马氏管内鸟嘌呤含量的变化,支气管束和疏松结缔组织的形态变化,此法比较简便,与目测法相结合平均误差一般不超过 10%。

4. 组织切片龄期分类法,可以获得比较准确的资料,有利于更加详细的分析螨类的龄期组成,尤其是 8 期分类法可以看出螨类在自然界中不同时间、不同地区其生理龄期的衰老动态,从而可以了解到某种螨在特定条件下的流行病学意义,为预测、预报和防制措施提供科学依据。

参 考 文 献

- 逢春积 1984 关于硬蜱 (Ixodidae) 的生理龄期。国外军事医学参考资料 (微生物流行病学) 4: 111—6。
- Балашов, Ю. С. 1961 Динамика запасных питательных веществ и определение возраста у голодных иксодовых клещей. Зоол. Ж. 40: 1354。
- Разумова, И. В. 1977 Физиологический возраст имаго иксодовых клещей и ускоренный метод его определения. Мед. Паразитол. и Паразитол. Болезни 46: 557.
- Репкина, Л. В. 1971 Некоторые Дополнения к методике определения Физиологического возраста иксодовых клещей (На пример *Ixodes persulcatus* Западного Саяна) Мед. Паразитол. и Паразитол. Болезни 40: 62—7.

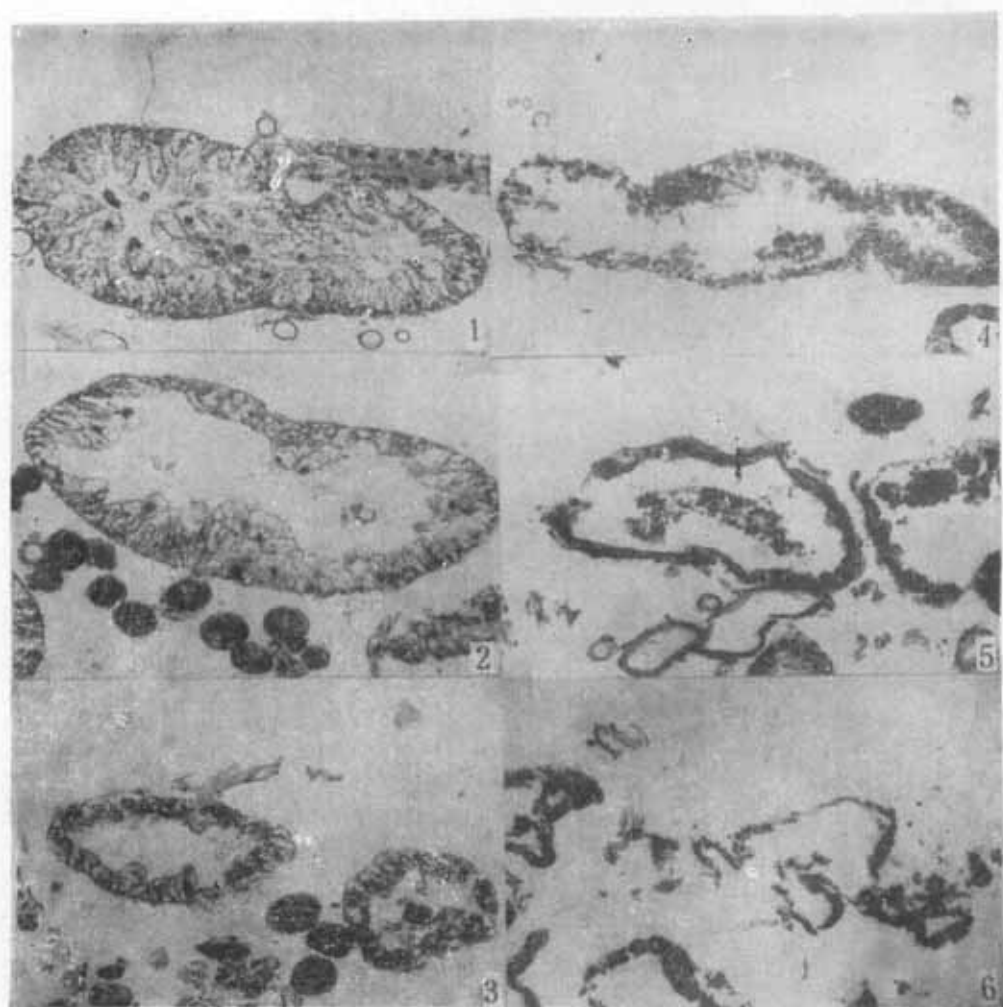
OBSERVATION ON PHYSIOLOGICAL AGE OF *DERMACENTOR NUTTALLI* IN ALTAI DISTRICT

PANG CHUN-JI HE HUA CHEN GUO-SHI

(Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Sciences)

For the determination of the physiological ages of the tick *Dermacentor nuttalli* in Altai District of Xinjiang Uygur Autonomous Region, three methods were used: observation of external figures with naked eye, anatomical method and histological method. The more laborous histological method may be used as the criterion for comparison. The results of these three methods were found to be basically similar and the error usually appeared around 10%. The swell or depression of the ventral surface of the abdomen from a side view can be used as the criterion for naked eye observation. It is simple and convenient. The constriction of midgut caeca, the filling of guanine spherules in malpighian tubule and the development of loose connective tissues and tracheal trunks are used as the criteria for anatomical examination. The histological change of the midgut epithelium serves as the criterion of histological method. By using these methods it was found that a young population in the grasslands of Altai District was present from the late decade of March to that of April when 47% of the population was in the second category of physiological age (in the third and fourth stages) and 11% in the third category (in the 5th stage). The tick population in these physiological ages was in a more vigorous state and had greater potential to attack their hosts.

Key words *Dermacentor nuttalli*—physiological age



切片法觀察草原革蜚生理齡期各期中腸上皮細胞形態變化
1. II-3 期 2. II-4 期 3. III-5 期 4. III-6 期 5. III-7 期 6. IV-8 期